Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Professor Dr. H. L. Krüskemper)

Vitamin D-Metabolite bei Hyperthyreose

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Hans-Josef Graf

1983

LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0010

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C
der Universität Düsseldorf

(Direktor: Professor Dr. H. L. Krüskemper)

Vitamin D-Metabolite bei Hyperthyreose

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Hans-Josef Graf

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan der
Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. A. Hopf

Referent:
gez.: Prof. Dr. Dr. E. Keck

Korreferent:
gez.: Priv. Doz. Dr. H. Peerenboom

Druck: R. Stehle GmbH & Co KG, Düsseldorf

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1	Einleitung.....	1
2	Fragestellung.....	5
3	Methodik.....	6
3.1	Versuchsaufbau.....	6
3.2	Proteinbindungsassays für 25-OH-D, 24,25-$(OH)_2$D und 1,25-$(OH)_2$D.....	6
3.2.1	Prinzip des kompetitiven Proteinbindungsassays.....	7
3.2.2	Material.....	7
3.2.3	Herstellung der Bindungsproteine.....	8
3.2.4	Extraktion der Vitamin D-Metabolite aus dem Plasma.....	9
3.2.5	Trennung der Metabolite.....	9
3.2.6.1	25-Hydroxy- und 24,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Assay.....	10
3.2.6.2	1,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Assay.....	11
3.3	Zur Methode der Calciumabsorptionsbestimmung.....	13
3.4	Statistische Auswertung.....	14
3.5	Patienten.....	15
4	Ergebnisse.....	20
4.1	Serum 25-OH-D-Spiegel.....	20
4.2	Serum 24,25-$(OH)_2$D-Spiegel.....	20
4.3	Serum 1,25-$(OH)_2$D-Spiegel.....	21

4.4 Jahreszeitliche Schwankungen..... 25
4.5 Calciumabsorptionswerte in Hyper- und Euthyreose..... 25
4.6 Calciumspiegel..... 29

5 Diskussion..... 30

ZUSAMMENFASSUNG..... 43

DANKSAGUNG..... 45

VERZEICHNIS DER TABELLEN UND ABBILDUNGEN.... 46

LITERATURVERZEICHNIS..... 48

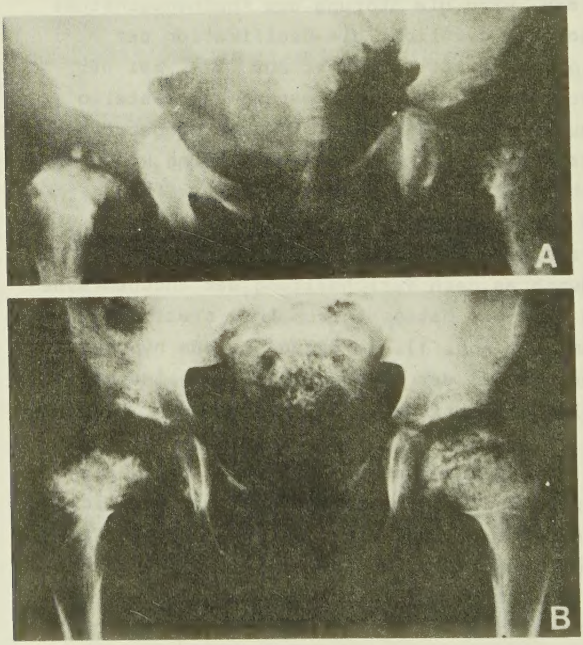
1 Einleitung

Die Schilddrüsenhormone Thyroxin (T_4) und Trijodthyronin (T_3) greifen wesentlich in den Calciumstoffwechsel ein. Beim Menschen sind bei Thyroxinmangel Knochenwachstum und Epiphysenschluß verzögert. Bei Kretins, die unter angeborenem Mangel an Schilddrüsenhormonen leiden, wird die Störung des Knochenwachstums besonders deutlich; die Ossifikation der Epiphysen tritt verspätet auf (22). Bei der Geburt fehlt die Verknöcherung der distalen Femurepiphyse, die beim gesunden Neugeborenen erkennbar ist. Neben der Verzögerung kommt es auch zu einer Störung der Skelettreifung, die Ossifikation geht gleichzeitig von verschiedenen Zentren in der Epiphyse aus, wodurch es nach Verschmelzung der Knochenkerne zum Bild der Osteochondropathia cretinoida kommt (s. Abb. 1). Im Gegensatz zum hypophysären Zwerg behält der hypothyreote Zwerg infantile Skelettproportionen.

Bei der Hyperthyreose manifestiert sich die Störung des Calciumstoffwechsels am deutlichsten in der Entwicklung einer Osteopenie. Von Recklinghausen beschrieb 1891 bei einer hyperthyreoten Patientin eine Erkrankung des Skelettsystems, die er als Ostitis fibrosa bezeichnete (121), der Begriff ist heute dem Hyperparathyreoidismus vorbehalten. Wenn auch heute die schweren Knochenerkrankungen selten geworden sind (5, 60, 120), so läßt sich doch die Osteopenie in der Mehrzahl der Fälle histologisch

Abb. 1

Osteochondropathia cretinoida. (A) 10-jähriges Mädchen. (B) 15-jähriger Junge. (aus: Avioli, 22).



oder durch Messung der Knochendichte nachweisen (2, 78, 86, 90).

Mit Bilanzmethoden wurde nachgewiesen, daß bei der Hyperthyreose vermehrt Calcium aus dem Knochen resorbiert (4, 43) und durch die Nieren ausgeschieden wird (4, 21, 93), während die Calciumabsorption aus dem Darm erniedrigt ist (4, 21, 49 67, 102).

Auch kinetische Studien mit Calcium-Isotopen ergaben eine erniedrigte intestinale Calciumabsorption (2, 67, 84, 85, 86, 108, 112).

Nach der Behandlung der Hyperthyreose normalisierte sich die Calciumabsorption wieder (108), und vermehrter Knochenabbau machte einem gesteigerten Knochenaufbau Platz (89).

Vitamin D spielt eine wichtige Rolle im Calciumstoffwechsel. Bei Vitamin D-Mangel entwickeln aufgrund fehlender oder mangelhafter Mineralisation des Osteoids Kinder eine Rachitis und Erwachsene eine Osteomalazie.

1928 schlossen Orr et al. aus ihren Beobachtungen (96), daß Vitamin D die intestinale Calciumabsorption stimuliert. Dies wurde 1930 durch Nicolaysen bestätigt (91, 92). 1,25-Dihydroxy-Vitamin D_3 (1,25 $(OH)_2D_3$) stimuliert die intestinale Calciumabsorption und zusammen mit Parathormon den Transport von Calcium aus dem Knochen in den Extrazellulärraum und die renale Rückresorption von Calcium im distalen Konvolut (16). Den Arbeiten über den intestinalen Calcium-Transport in vivo folgten solche mit in vitro-Techniken (3, 82, 104, 106,122).

Die verschiedenartigen Veränderungen des Calciumstoffwechseles bei Hyper- und Hypothyreose lassen vermuten, daß sie durch Wirkungen der Schilddrüsenfunktionsstörung auf das Vitamin D-Parathormon-System hervorgerufen werden. Es lag deshalb nahe, die Plasmakonzentrationen des Prohormons 25 OH D und der aktiven Metabolite 1,25 $(OH)_2D$ und 24,25-$(OH)_2D$ (24,25-Dihydroxy-Vitamin D) zu bestimmen. Hierüber liegen bisher nur unvollständige und zum Teil widersprüchliche Angaben vor (4, 61, 65, 79, 88, 100, 119). Es war von Vorteil, daß zum Teil bei denselben Patienten die intestinale Calciumabsorption und andere Parameter des Calciumstoffwechsels bestimmt werden konnten.

2 Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit war es, folgende Fragen zu untersuchen:

1) Welchen Einfluß hat die Behandlung der Hyperthyreose auf die Serumkonzentrationen von 25 OH-D, 24,25 $(OH)_2$ D und 1,25 $(OH)_2$ D,

2) besteht ein Zusammenhang zwischen Veränderungen der Konzentrationen der Vitamin D Metabolite und der Veränderung der intestinalen Calciumabsorption vor und nach Behandlung der Hyperthyreose?

3 Methodik

3.1 Versuchsaufbau

Bei hyperthyreoten Patienten wurde Blut entnommen zur Bestimmung folgender Parameter: T_3, T_4, Ca, 25 OH D, 24,25 $(OH)_2$ D und 1,25 $(OH)_2$ D. Anschließend wurde mittels dreilumiger Sonde die Calciumabsorption aus dem Darm direkt bestimmt. Bei einigen Patienten wurden zur Sicherung der Diagnose Hyperthyreose weitere Laboratoriumsuntersuchungen durchgeführt, z. B. der TRH-Test. Die Patienten wurden medikamentös oder operativ in eine euthyreote Stoffwechsellage gebracht. Nach Erreichen der Euthyreose wurden wiederum T_3, T_4, Ca, 25 OH D, 24,25 $(OH)_2$ D, 1,25 $(OH)_2$ D sowie die intestinale Calciumabsorption bestimmt.

3.2 Proteinbindungsassays für 25 OH D, 24,25 $(OH)_2$ D und 1,25 $(OH)_2$ D

Da nicht bekannt ist, ob der hier verwendete Assay spezifisch Vitamin D_3 erfaßt, oder ob Interferenzen zum Beispiel mit Vitamin D_2 bestehen, wurde die Bezeichnung "Vitamin D" gewählt.

3.2.1 Prinzip des kompetitiven Proteinbindungsassays

Das Prinzip des Proteinbindungsassays beruht auf der konkurrierenden Bindung zweier gleicher Verbindungen, von denen eine radioaktiv markiert ist, an ein Bindungsprotein.
Die Herstellung der Bindungsproteine für die Vitamin D Metabolite erfolgte nach der Methode von Haddad und Chyu (45) für 25 OH D und 24,25 $(OH)_2$ D bzw. nach der von Lambert et al. (75) für das 1,25 $(OH)_2$ D.
Man inkubiert eine bestimmte Menge des Bindungsproteins und des markierten Vitamin D Metabolits mit verschiedenen Konzentrationen von unmarkiertem Metabolit. Markiertes und unmarkiertes Vitamin D konkurrieren um die Bindungsstellen des Rezeptorproteins. Nach Einstellen des Gleichgewichtes werden die freien, markierten Metabolite von den Metabolit-Bindungsprotein- Komplexen mit Charcoal getrennt (63, 64). Durch Messung der Radioaktivität des Metabolit-Bindungsprotein-Komplexes ermittelt man über eine Eichkurve die Konzentrationen unmarkierter Metabolite.
Eine ausführliche Beschreibung der Assays wurde schon von Keck et al. (63) publiziert.

3.2.2 Material

(1,2(n)-^{3}H)Cholecalciferol (Lot. Nr. 998-180, NEN, Boston); (1,2(n)-^{3}H) Cholesterin (Lot. Nr. 1009-094, NEN, Boston); (23,24(n)-^{3}H)25-Hydroxycholecalciferol (Code TRK 558, Batch 8); (23,24 (n)-^{3}H)-

24,25-Dihydroxycholecalciferol (Code TRK 616, Batch A 2); (23,24(N)-^{3}H)1,25-Dihydroxycholecalciferol (Code TRK 558, Batch A 8). Sämtliche markierten Cholecalciferolderivate sind käuflich erhältlich (Amersham Buchler, Braunschweig).
Die Vitamin D Metabolite werden zuerst über eine wassergekühlte Sephadex LH 20-Säule (1,5 cm Durchmesser, 50 cm, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden), Laufmittel: n-Hexan/$CHCl_3$/CH_3OH 9+1+1 (v,v,v), anschließend in CH_2Cl_2/CH_3OH 98 + 2 (v+v) über eine HPLC-Anlage (Dialog, Düsseldorf) (HPLC = High Performence Liquid Chromatographie), (LiChrosorb SI 100 (o,4 x 30,0, 10 um), Flußgeschwindigkeit 1 ml/min) gereinigt. Organische Lösungsmittel und LiChrosorb SI 100 wurden bei Merck, Darmstadt, gekauft. Der Puffer, den wir verwendeten, bestand aus 0,05 mol/l Tris-HCl, 0,15 mol/l KCl (Merck, Darmstadt) und 12 mmol/l Thioglycerin (Fluka AG, Buchs, Schweiz), pH 7,4 bei 23 C.

3.2.3 Herstellung der Bindungsproteine

Die Bindungsproteine zur Bestimmung des 25-OH-D und des 24,25-$(OH)_2$-D wurden aus den Nieren rachitischer Ratten, entsprechend der Vorschrift von Haddad und Chyu gewonnen (45). Sie konnten vor der Verwendung im Assay mit Tris-Puffer auf 1 : 40 verdünnt werden.
Das Bindungsprotein für 1,25 $(OH)_2$-D wurde in Anlehnung an die von Lambert et al. (75) beschriebene Methode aus der Mukosa weißer Leghorn Küken hergestellt. Die Küken erhielten

Vitamin D arme Kost und Wasser ad libitum. Sie wurden bei 28 C ohne UV-Strahlung in Käfigen gehalten, bis sie nach 4 - 5 Wochen getötet wurden.

3.2.4 Extraktion der Vitamin D Metabolite aus dem Plasma

6 ml Serum werden nach Zugabe der Recoverycounts (1500 cpm markiertes 25 OH D und 1,25 $(OH)_2$ D sowie 1000 cpm markiertes 24,25 $(OH)_2$ D) in zwei Portionen geteilt. Die Seren werden mit 9 ml CH_3OH/CH_2Cl_2 2 + 1 (v+v) 10 min, nach Zugabe weiterer 3 ml CH_2Cl_2 nochmals 10 min geschüttelt. Es folgt eine Zentrifugation (15 min, 1400 g, 4 C MSE, Fisons, Colora, Düsseldorf). Anschließend erfolgt eine Wiederholung der Extraktion mit 6 ml CH_2Cl_2. Die organischen Phasen der beiden Portionen werden vereint, zweimal mit wässrigen Phosphat-Lösungen (0,05 mol/l, pH 8,5) gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft.

3.2.5 Trennung der Metabolite

Auf einer Sephadex LH 20-Säule (Laufmittel: n-Hexan/Chloroform/Methanol 9+1+1 v,v,v) (0,9 x 15 cm) wird das 25 OH D von den beiden anderen Metaboliten (24,25 $(OH)_2$ D und 1,25 $(OH)_2$ D) getrennt. Die Eluate werden im Rotationsverdampfer

bis zur Trockene eingedampft. In einer zweiten LH 20-Säule (0,9 x 15 cm, Laufmittel: n-Hexan/ Chloroform 1 + 1 v+v) werden die Lipoproteine, die mit dem Bindungsprotein interferieren, aus den beiden Eluaten der ersten LH 20-Säule entfernt. Die Eluate werden im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft.
Der letzte Reinigungsschritt erfolgt über eine HPLC-Säule (LiChrosorb SI 100, 10 um, Laufmittel: CH_2Cl_2/CH_3OH 98 + 2 v+v). Hier wird das 24,25 $(OH)_2$ D vom 1,25 $(OH)_2$ D getrennt. Es erfolgt Eindampfen unter N_2 bis zur Trockene.
Zur Messung der Revovery und zur Messung des Assays werden die Metabolite in CH_2Cl_2/CH_3OH 98 + 2 v+v mit unterschiedlichen Volumina aufgenommen (1600 ul für 25 OH D, 600 ul für 24,25 $(OH)_2$ D und 1,25 $(OH)_2$ D.

3.2.6.1 25-Hydroxy- und 24,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Assay

Nachdem die Metabolite in CH_2Cl_2/CH_3OH (s.o.) aufgenommen sind, werden vom 25-Hydroxy-Vitamin-D 500 ul für die Bestimmung der Recovery (Tricarb, Packard, Warrenville, USA) entnommen. Zwei 250 ul Proben werden unter N_2 bis zur Trockene eingedampft und mit 60 ul absoluten Äthanols wieder aufgenommen. 50 ul werden für eine Doppelbestimmung in den Assay eingesetzt.
Vom 24,25-Dihydroxy-Vitamin-D werden 50 ul für die Recovery entnommen. Das weitere Vorgehen stimmt mit dem beim 25 OH D-Assay überein.
Die Ansätze für die Assaya bestehen aus 1 ml

Bindungsproteinlösung, 50 ul markiertem 25 OH D bzw. 24,25 $(OH)_2$ D (1000 cpm in absolutem Äthanol) und verschiedenen Mengen nicht radioaktivem 25 OH D bzw. 24,25 $(OH)_2$ D in 50 ul Alkohol. Außer den Röhrchen für die Bestimmung der spezifischen und unspezifischen Bindung werden alle Röhrchen unter N_2 eingedampft, um den störenden Alkoholgehalt möglichst gering zu halten. Für die Erstellung der Standardkurven werden 0,15 - 20 ng kristallines 25 OH D bzw. 24,25 $(OH)_2$ D eingesetzt (s. Abb. 2).
In die Probenröhrchen kommen 50 ul des in Äthanol gelösten jeweiligen Standards bzw. 50 ul, die die zu bestimmenden Metabolite enthalten. Die Assays werden im Wasserbad bei 25 C zwei Stunden inkubiert. Anschließend wird zur Trennung der gebundenen von den nicht gebundenen Vitamin D-Metabolite jedes Röhrchen mit 0,5 ml einer Lösung von 10 g Charcoal (Norit A, Serva, Heidelberg) in 1 l Trispuffer versetzt, eine Minute geschüttelt und zentrifugiert (1400 g, 10 min, 4 C). 1 ml des Überstandes wird zur Messung der Radioaktivität entnommen (Insta-Gel, Packard, Warrenville, USA).

3.2.6.2 1,25-Dihydroxy-Vitamin D Assay

Von den oben erwähnten 600 ul werden 50 ul für die Recovery gezählt. Der Rest wird unter N_2 eingedampft und in 30 ul Äthanol aufgenommen. 25 ul hiervon gelangen in den Assay.

Die Ansätze für den Assay bestehen aus 0,5 ml Bindungsprotein-Lösung

Abb. 2

Standardkurve 24,25 $(OH)_2D$ (aus: Keck et al, 63)

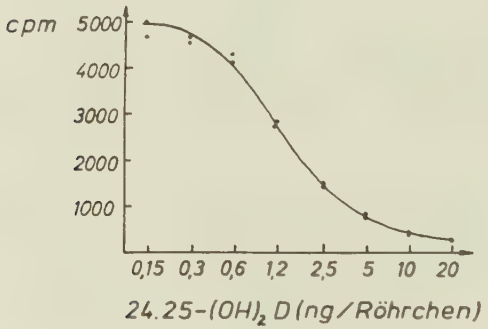
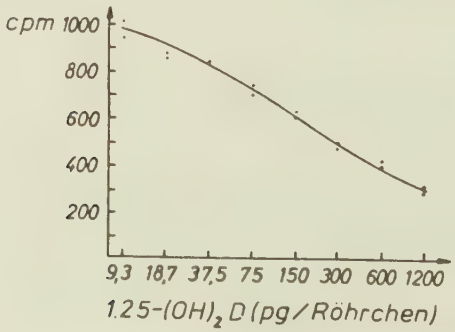


Abb. 3

Standardkurve 1,25 $(OH)_2D$ (aus: Keck et al., 63)



(0,9 g/l), markiertem 1,25 $(OH)_2$ D (5000 cpm in 25 ul absolutem Äthanol) und verschiedenen Mengen nicht radioaktivem 1,25 $(OH)_2$ D in 25 ul Alkohol. Außer den Röhrchen für die Bestimmung der spezifischen und unspezifischen Bindung werden alle Röhrchen unter N_2 eingedampft. Für die Erstellung der Standardkurve werden 0,9 - 1200 pg kristallines 1,25 $(OH)_2$ D eingesetzt (s. Abb. 3). Nach der Berechnung der Recovery wird der Gehalt an Radioaktivität in allen Probenröhrchen korrigiert, so daß alle Röhrchen denselben Radioaktivitätsgehalt haben. In die Ansätze kommen 25 ul des in Äthanol gelösten Standards bzw. 25 ul der oben erwähnten zu bestimmenden Proben. Der Assay wird im Wasserbad bei 25 C zwei Stunden inkubiert. Die zur Trennung des gebundenen von dem nicht gebundenen 1,25 $(OH)_2$ D eingesetzte Charcoal-Lösung muß besonders präpariert werden (35), da sie andernfalls sämtliche Aktivität an sich bindet. Die Röhrchen werden mit 250 ul der Charcoal-Lösung versetzt, 30 min stehengelassen und dann zentrifugiert (1400 g, 4 C, 10 min). 500 ul des Überstandes werden zur Messung der Radioaktivität entnommen.

3.3 Zur Methode der Calciumabsorptionsbestimmung

Die Messung der intestinalen Calciumabsorption wurde im Labor von H. Peerenboom, Med. Klinik D der Universität Düsseldorf, durchgeführt. Die Messungen erfolgten durch Perfusion des Jejunums mit einer dreilumigen Sonde in Anlehnung an die

Technik von Ingelfinger und Fordtran (99). Durch die kürzeste der Sonden wurde die Testlösung, die sich mit dem Nüchternsekret mischte, infundiert. Das 30 cm lange untersuchte Darmsegment begann 15 cm weiter mit dem proximalen Aspirationspunkt und endete mit dem distalen Aspirationspunkt. Der lag nahe der Sondenspitze. Bei korrekter Lage befand sich die Infusionsöffnung 10 cm jenseits des Treitzschen Bandes.
Zur Bestimmung der Absorptionsrate im Testsegment verwendete man die Konzentrationsdifferenz zwischen den am Anfang und Ende des Testsegmentes aspirierten Proben; die Korrektur für die transmurale Wasserbewegung erfolgte anhand der Konzentration einer schwer absorbierbaren Markersubstanz, Poly-Äthylenglykol 4000. Die Testlösung enthielt 1,2 oder 5 mmol/l Ca. Die Durchführung und Berechnung der Calciumabsorptionsmessung wurden von Peerenboom veröffentlicht (99).

3.4 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurden die arithmetischen Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) sowie die empirischen Korrelationskoeffizienten (r) herangezogen.
Zur Signifikanzprüfung wurde der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde mit p 0,025 bzw. 0,001 festgelegt, d. h. die Irrtumswahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art ist kleiner als 2,5% bzw. 1%.
Die Signifikanzschranken wurden den Geigy-Tabellen (36) entnommen.

3.5 Patienten

Bei den 13 untersuchten Patienten handelte es sich um Patienten der Schilddrüsenambulanz der hiesigen II. Medizinischen Klinik. Unter ihnen waren elf Frauen und zwei Männer. Die jüngste Patientin war 34 Jahre, die älteste 66 (Durchschnittsalter: 49). Außer einer Hyperthyreose hatte keiner der Patienten eine andere offensichtliche Erkrankung des endokrinen Systems, bei keinem lag eine Nierenerkrankung vor. Bei einer Patientin bestand der Verdacht auf eine Leberfunktionsstörung. Drei Patieten waren wegen des Schweregrades der Hyperthyreose schon vor der ersten Blutentnahme für die Vitamin D-Bestimmung antithyreoidal behandelt worden. Der Patient K. K. erhielt ein Jahr vor der ersten und drei Monate vor der zweiten Vitamin D-Bestimmung eine Radiojodtherapie; der Patient V. C. wurde schon vor der ersten Bestimmung mit Methimazol behandelt. Beide Patienten waren zum Zeitpunkt der ersten Bestimmung der Vitamin D-Metabolite klinisch und laborchemisch eindeutig hyperthyreot. Der Patient K. M. war mit Lithium und Thiamazol vorbehandelt worden, deshalb war am Untersuchungstag T_4 unterhalb des meßbaren Bereiches, T_3 war mit 262 ng/dl erhöht. Vor der Behandlung hatte die Serum T_3-Konzentration um 4000 ng/dl gelegen. Bei allen Patienten war T_3 bei der ersten Untersuchung oberhalb des Normbereiches, T_4 war bei zehn Patienten erhöht. Nach Gabe von TRH stieg das TSH in allen untersuchten Fällen ungenügend an. Der Mittelwert der Serumcalciumkonzentration

Tab. 1a

Daten der Patienten

Pat.		Alter (Jahre)	Anamnese	Besonderes
K. K.	w	62	Hyperthyreose bei Struma multinodosa	Radiojodtherapie
M. L.	w	44	Hyperthyreose bei Struma diffusa I-II (Leberfunktionsstörung)	
L. M.	w	48	Hyperthyreose bei Struma diffusa II	Carbimazol vor Untersuchung
K. M.	m	44	Hyperthyreote Krise Struma diffusa II	Lithium, Thiamazol vor Untersuchung
P. M.	w	46	Hyperthyreose bei Struma diffusa	
P. G.	w	66	Thyreotoxische Krise nach Jodkontamination	

Tab. 1b

Daten der Patienten

Pat.	Alter (Jahre)		Anamnese
Z. Z.	m	66	Struma diffusa I-II
M. G.	w	46	Hyperthyreose, autonomes Adenom
T. E.	w	60	Hyperthyreose, autonomes Adenom
F. H.	w	53	Hyperthyreose bei Struma nodosa Orbitopathie Grad IV
K. R.	w	43	Hyperthyreose bei Struma diffusa
V. C.	w	34	Hyperthyreose bei Struma diffusa II-III
L. M.	w	50	Hyperthyreose bei Struma diffusa

Tab. 1c

Daten der Patienten

Pat.	T_3 (ng/dl)		T_4 (ug/dl)		Ca (mmol/l)	
	v	n	v	n	v	n
K.K.	446	179	17,3	10,4	2,28	2,56
M.L.	549	153	17,0	10,0	2,46	2,53
L.M.	359	138	17,2	6,8	2,48	2,37
K.M.	262	98	0,0	10,6	2,33	2,21
P.M.	620	208	27,9	8,3	2,54	2,32
P.G.	420	193	17,4	9,2	2,29	2,44
Z.Z.	413	117	19,8	8,5	2,49	2,31
M.G.	241	127	11,8	5,9	2,41	2,40
T.M.	242	140	26,8	8,0	2,20	2,30
F.H.	259	77	13,4	5,4	2,71	2,40
K.R.	565	164	36,5	11,5	2,53	2,72
V.C.	544	126	15,8	5,4	2,38	2,44
L.M.	560	160	14,9	6,4	2,28	2,35
$\bar{x} \pm$	421	145	18,1	8,2	2,41	2,41
s	139	37	8,7	2,0	0,13	0,13

v = vor Behandlung
n = nach Behandlung

betrug vor und nach der Behandlung 2,41 ± 0,13 ($\bar{x} \pm s$). Es gibt keine Korrelation zwischen der Änderung von T_3 ($r = -0,16$; r: empirischer Korrelationskoeffizient) bzw. T_4 ($r = -0,17$) und der Änderung der Serumcalciumkonzentration. Die Daten zu den Patienten sind im einzelnen in den Tabb. 1a, 1b und 1c aufgeführt.

4 Ergebnisse

Alle Untersuchungen beziehen sich auf dieselbe Patientengruppe.

4.1 Serum 25-OH-D-Spiegel

Bei 13 Patienten fand sich ein mittlerer 25-OH-D-Spiegel von 12,2 ± 8,4 ug/l ($\bar{x}$ ± s) bei hyperthyreoter Stoffwechsellage.
Dieser Wert weicht nur geringfügig von den von Keck et al. (63) ermittelten Werten offensichtlich Vitamin D-Stoffwechsel-gesunder Probanden ab (Oktober: 33,2 ± 16,0 ug/l, April: 9,0 ± 2,4 ug/l, Mittelwert: 15,5 ± 7,9 ug/l, n = 17).
Bei denselben Patienten fanden sich nach Erreichen der Euthyreose im Mittel 14,5 ± 6,6 ug/l ($\bar{x}$ ± s) 25-OH-D im Serum. Es konnte kein signifikanter Unterschied für die Konzentration des 25-hydroxylierten Vitamin D zwischen hyperthyreoter und euthyreoter Stoffwechsellage nachgewiesen werden. Die Werte der einzelnen Patienten sind in Tab. 2 aufgeführt. Siehe auch Abb. 4.

4.2 Serum 24,25-$(OH)_2$-D-Spiegel

Bei 12 hyperthyreoten Patienten (s. Tab. 3 und Abb. 5) betrug die 24,25-$(OH)_2$-D-Konzentration im Serum im Mittel: 3,29 ± 2,41 ug/l ($\bar{x}$ ± s).

Nach Erreichen einer euthyreoten Stoffwechsellage ergab sich im Mittel eine Abnahme der 24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen auf 2,04 ± 1,10 ug/l ($\bar{x}$ ± s).
Keck et al. (63) gaben folgende 24,25-$(OH)_2$-D-Werte offensichtlich Gesunder an: 2,4 ± 1,0 ug/l (n = 17). Der Unterschied der 24,25-$(OH)_2$-D-Spiegel zwischen Hyperthyreose und Euthyreose ist signifikant (p 0,025).
Die Einzelwerte der Patienten sind in Tab. 3 aufgeführt. Siehe auch Abb. 5.

4.3 Serum 1,25-$(OH)_2$-D-Spiegel

Im Mittel betrug die 1,25-$(OH)_2$-D-Serumkonzentration bei hyperthyreoter Stoffwechsellage 37,3 ± 22,6 ng/l ($\bar{x}$ ± s).
Nach Erreichen der Euthyreose fand sich ein signifikanter Anstieg (p 0,001) auf 71,5 ± 22,6 ng/l ($\bar{x}$ ± s).

Keck et al. (63) gaben folgende 1,25-$(OH)_2$-D-Werte offensichtlich Gesunder an: 53 ± 11 ng/l ($\bar{x}$ ± s).
Zu den Einzelwerten siehe Tab. 4 und Abb. 6.
Die Mittelwerte aller gemessenen Vitamin-D-Metabolite und die Standardabweichungen der Einzelwerte finden sich in Tab. 5, eine graphische Darstellung in Abb. 7.

Tab. 2

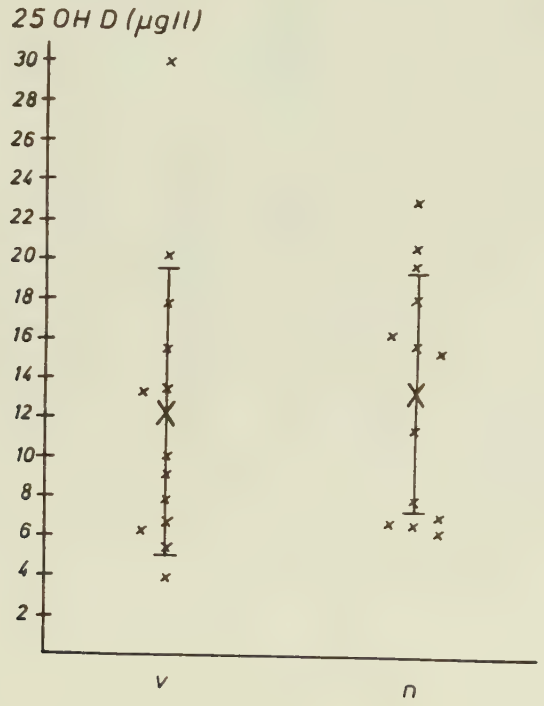
25-OH-D-Konzentrationen

Pat.	25-OH-D ug/l	
	v	n
K.K.	14,63	8,65
L.M.	7,31	21,43
M.L.	14,57	12,32
N.K.	10,88	7,15
M.P.	9,92	17,05
G.P.	5,90	7,18
Z.Z.	32,52	24,88
G.M.	19,22	22,43
M.T.	21,86	17,48
H.F.	16,86	19,58
R.K.	6,80	6,80
C.V.	8,54	16,59
M.L.	4,25	7,15
$\bar{x}$	12,17	14,51
$\pm$	8,42	6,61

v = vor Behandlung
n = nach Behandlung

Abb. 4

25-OH-D-Konzentrationen



Tab. 3

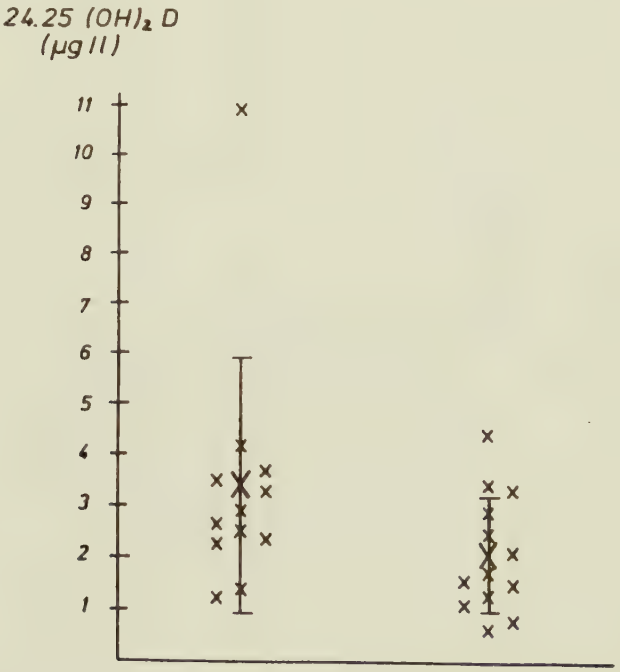
24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen

Pat.	24,25-$(OH)_2$-D ug/l	
	v	n
K.K.	4,05	3,26
L.M.	3,60	2,40
M.L.	2,44	2,06
N.K.	3,22	3,34
M.P.	2,81	1,69
G.P.	10,46	4,23
Z.Z.	2,32	1,54
G.M.	1,35	1,09
M.T.	1,20	2,81
H.F.	2,55	1,24
R.K.	3,37	0.79
C.V.	2,17	0,64
M.L.	-	1,46
$\bar{x}$	3,29	2,04
$\pm$	2,41	1,10

v = vor Behandlung
n = nach Behandlung

Abb. 5

24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen



Tab. 4

1,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen

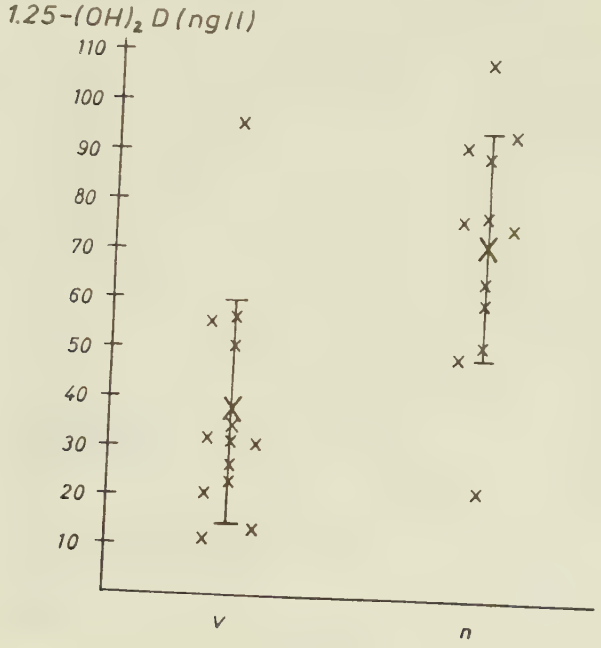
Pat.	1,25-$(OH)_2$-D ng/l	
	v	n
K.K.	56,9	91,1
L.M.	31,4	64,1
M.L.	11,8	75,0
N.K.	55,9	108,3
M.P.	23,1	49,0
G.P.	95,4	76,1
Z.Z.	13,7	51,4
G.M.	26,9	22,3
M.T.	32,6	60,0
H.F.	34,8	94,0
R.K.	50,5	89,2
C.V.	20,9	71,0
M.L.	30.9	77,8
$\bar{x}$	37,3	71,5
$\pm$	22,6	22,6

v = vor Behandlung

n = nach Behandlung

Abb. 6

1,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen



4.4 Jahreszeitliche Schwankungen

Es ergab sich kein Hinweis darauf, daß der Anstieg bzw. Abfall der 1,25-$(OH)_2$-D- bzw. 24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen durch die jahreszeitlich bedingten Schwankungen der Konzentrationen der Vitamin-D-Metabolite bedingt sein könnte (s. Abb. 8 und Abb. 9) (63, 114). Die Zeitpunkte für die Blutentnahme für die Vitamin D-Bestimmungen waren über das ganze Jahr verteilt, und unabhängig von der Jahreszeit konnten ein Anstieg der Konzentrationen von 1,25-$(OH)_2$-D und ein Abfall der 24,25-$(OH)_2$-D-Konzentration nach der Behandlung der Hyperthyreose beobachtet werden.

4.5 Calciumabsorptionswerte in Hyper- und Euthyreose

Für die Messung der intestinalen Calciumabsorption stellten sich vier Patienten in hyperthyreoter und von diesen drei auch in euthyreoter Stoffwechsellage zur Verfügung.
In Hyperthyreose betrug die Calciumabsorption (2 mmol/l Ca im Perfusat): 31 $\pm$ 17 umol/h ($\bar{x} \pm s$).
In Euthyreose (2 mmol/l Ca im Perfusat) wurden 104,3 $\pm$ 40,5 umol/h ($\bar{x} \pm s$) absorbiert.
Für die freundliche Überlassung der Calciumabsorptionswerte danke ich Herrn H. Peerenboom, Medizinische Klinik C der Universität Düsseldorf.

Tab. 5

Mittelwerte der D-Metabolite

	v	n
25-OH-D ug/l	12,17 ± 8,42	14,51 ± 6,61
24,25-$(OH)_2$D ug/l	3,29 ± 2,41	2,04 ± 1,10
1,25-$(OH)_2$D ng/l	37,3 ±22,6	71,5 ± 22,6
	$\bar{x}$ ± s	$\bar{x}$ ± s

v = vor Behandlung
n = nach Behandlung

Abb. 7

D-Metabolite vor und bei Behandlung

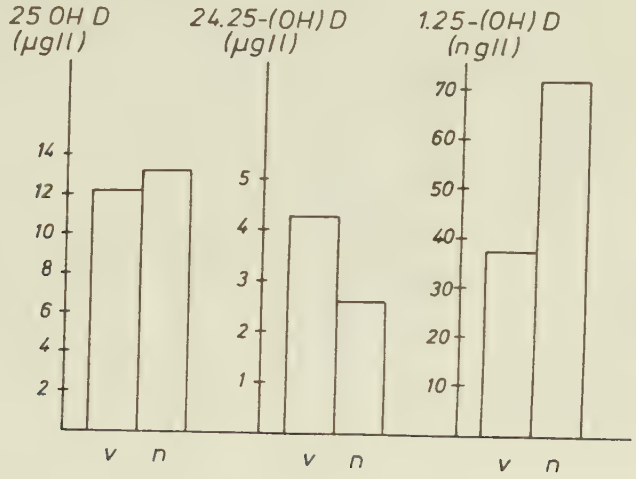


Abb. 8

Änderung der 1,25-$(OH)_2$D-Konzentration während der Behandlung in Abhängigkeit von der Jahreszeit

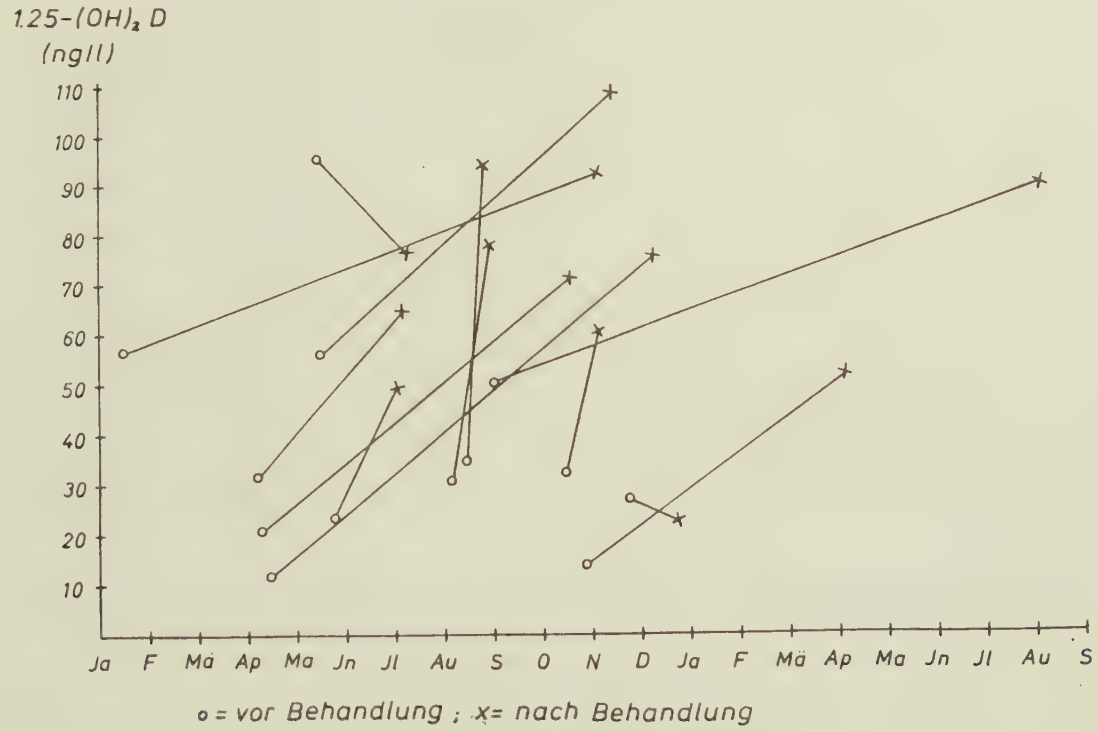
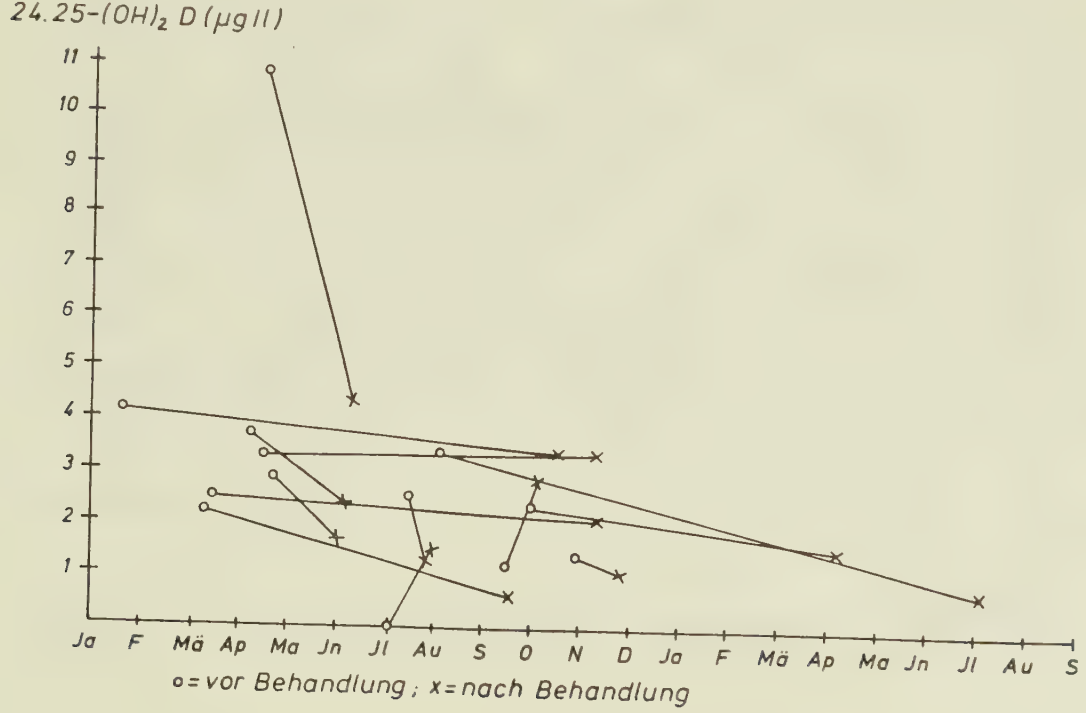


Abb. 9

Änderung der 24,25-$(OH)_2$D-Konzentration während der Behandlung in Abhängigkeit von der Jahreszeit



4.6 Calciumspiegel

Bei den für diese Arbeit untersuchten Patienten fand sich in keinem Fall eine Hypercalcämie. Der Mittelwert ± Standardabweichung der Serumcalciumkonzentration in hyperthyreoter Stoffwechsellage betrug: 2,41 ± 0,13 mmol/l ($\bar{x}$ ± s) und nach Behandlung in euthyreotem Zustand ebenfalls: 2,41 ± 0,13 mmol/l.

5 Diskussion

Die Schilddrüsenhormone Thyroxin (T_4) und Trijodthyronin (T_3) greifen wesentlich in Calciumstoffwechsel, Abbau-, Aufbau- und Umbauvorgänge des Skelettsystems ein. Einerseits beeinflussen sie Wachstum und Reifung des Skeletts, andererseits spielen sie eine wichtige Rolle für das Gleichgewicht des Skelettmetabolismus.

Durch einen Mangel an Schilddrüsenhormonen in der Wachstumsphase entstehen die für Kretins typischen Wachstums- und Reifungsstörungen des Skeletts. Die Ossifikation der Epiphysen ist verspätet und gestört. Bei einem hypothyreoten Neugeborenen fehlt sehr häufig die Verknöcherung der distalen Femurepiphyse. Treten dann verspätet Knochenkerne auf, so gehen sie gleichzeitig von verschiedenen Zentren in der Epiphyse aus. Im Röntgenbild erscheint die Epiphyse nach Verschmelzung der Knochenkerne punktiert (s. Abb. 1). Die Störungen der Skelettreifung führen zu einem nicht proportionierten Minderwuchs.

Der Skelettmetabolismus ist bei Hypothyreose deutlich verlangsamt. Die fehlende oder verspätete Ossifikation der Epiphysen wurde schon erwähnt. Bei einigen hypothyreoten Patienten konnte radiologisch eine gesteigerte Knochendichte nachgewiesen werden (22). Die Calcium- und Phosphatausscheidung über Niere und Darm ist bei Mangel an Schilddrüsenhormonen vermindert (4). Radioaktiv markiertes Calcium wird verlangsamt in den Knochen eingebaut (67).

Gewöhnlich ist bei Patienten mit Hypothyreose der Serumcalciumspiegel im Normbereich, möglicherweise besteht eine Tendenz zur Hypocalcämie (22). Bouillon und de Moor (12) fanden bei hypothyreoten Patienten niedrigere Serumcalciumkonzentrationen als bei der Kontrollgruppe; zusätzlich war die Parathormonsekretion gesteigert, was die Vermutung auf einen sekundären Hyperparathyreoidismus bei Hypocalcämie nahelegt. Dieses Phänomen könnte zumindest teilweise die von Bouillon und de Moor (12) berichtete Steigerung der intestinalen Calciumabsorption erklären.

Bei der Hyperthyreose gehen mit dem Bild einer Osteopenie (2, 78, 84, 86, 121) eine vermehrte Resorption von Calcium aus dem Knochen (4, 132), eine erhöhte Ausscheidung durch die Nieren (4, 21, 93) und eine verminderte intestinale Calciumabsorption (2, 21 49, 67, 84, 85, 86, 105, 112, 130) einher. Behandlung der Hyperthyreose führt zu einer Normalisierung der Calciumabsorption aus dem Darm (107, 108). Häufig geht eine Hyperthyreose mit einer Hypercalcämie einher (2, 7, 39, 67, 97). Zwischen Hypercalcämie und zirkulierenden Schilddrüsehormonen ist keine Korrelation gefunden worden (2, 7). Gehäuft findet sich bei Hyperthyreose gleichzeitig ein primärer Hyperparathyreoidismus (97). Bouillon und de Moor (12), sowie Mosekilde und Christensen (87) berichteten von relativ niedrigen Serumparathormonspiegeln bei der Hyperthyreose.

Vitamin D

Vitamin D wird entweder mit der Nahrung aufgenommen oder in der Haut sythetisiert. Cholecalciferol (D_3) entsteht in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol durch Enzymkatalyse unter Absorption von UV-Strahlung. In der Leber erfolgt in endoplasmatischen Retikulum eine Hydroxylierung in Position 25 (9, 23, 54); das Enzym ist NADPH-, O_2-, und Mg^{++}-abhängig (9, 23). Wie auch andere Vitamin D-Metabolite wird das 25-OH-D im Plasma an ein Transportprotein (Molekulargewicht: 52000), das von Ratten (11) und vom Menschen (47, 57) isoliert wurde, gebunden (23). 25-OH-D erreicht die größte Plasmakonzentration aller bisher gemessenen Vitamin D-Metabolite (26, 46). Keck et al. (1981) maßen einen Durchschnittswert von 15,5 $\pm$ 7,9 µg/l (63). 25-OH-D hat selbst nur geringe Wirkung auf Erfolgsorgane (16, 24). In den Mitochondrien der Niere wird 25-OH-D in Position 1 hydroxyliert (27, 40,42). Das 25-Hydroxycholecalciferol-1-Hydroxylase-System schließt die innere Mitochondrienmembran, NADPH, Ferredoxin Reduktase, Ferredoxin und Cytochrom P 450 ein (38, 98). Wenn auch die meisten Autorendie Niere als einzigen Herstellungsort für 1,25-$(OH)_2$-D ansehen (16, 23, 83), so gibt es doch in neuerer Zeit Hinweise aus in-vitro-Untersuchungen auf extrarenale 1,25-$(OH)_2$-D-Produktion in der Plazenta (41, 129) sowie in

Spongiosa (61) bzw. Knochenzellen (55, 56). 1,25-$(OH)_2$D wird gekoppelt an ein Protein im Plasma transportiert.

In physiologischen Dosen ist 1,25-$(OH)_2$-D die aktive Form des Vitamin D, die den aktiven, intestinalen Calciumtransport fördert (23). Weitere Untersuchungen lassen vermuten, daß 1,25-$(OH)_2$-D im Darm weiter metabolisiert wird (29, 30, 131).

Die 1 -Hydroxylierung ist nicht der einzige Stoffwechselweg für das 25-OH-D. Hollick et al. beschrieben die 24-Hydroxylierung von 25-OH-D in der Niere (53). Für die Niere als hauptsächlichen Syntheseort des 24,25-$(OH)_2$-D beim Menschen spricht auch die Studie von Taylor et al. (118), die bei nierenlosen Patienten kein 24,25-$(OH)_2$-D finden konnten. Die Bildung von 24,25-$(OH)_2$-D in der Niere konnte nachgewiesen werden durch Inkubation von 25-OH-D in Kükennierenhomogenaten (95) und in Kulturen von Nierenzellen von Affen (59) und Küken (51). 24,25-$(OH)_2$-D fehlt im Serum nephrektomierter Ratten nach Injektion von 325 pmol 25-OH-D (15, 34), ist nach hohen Dosen aber nachweisbar (34). Gray et al. konnten 24,25-$(OH)_2$-D im Blut nierenloser Patienten nachweisen (144). Die 25-OH-D-24-Hydroxylase der Niere ist wahrscheinlich in den Mitochondrien lokalisiert (66). Im Darm von Ratten fanden Kumar et al. auch eine 25-OH-D-24-Hydroxylase (74). Garabedian et al. beschrieben die Synthese von 24,25-$(OH)_2$-D in Knorpel und Schädelknochen von Ratten und Kaninchen (31, 33).

Über die Funktion von $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ ist nur wenig bekannt (33, 58). Malluche et al. (80) fanden bei einer Untersuchung an Leghorn-Küken, daß $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ den Serum-Calciumspiegel und das Serumphosphat senkt. $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ trägt wahrscheinlich zusammen mit $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ zur Erhaltung eines normalen Osteoidvolumens bei (80).

Die wichtigsten physiologischen Wirkungen des Vitamin D sind Erhaltung des Calcium- und Phosphatgehaltes des Organismus und die Kontrolle der Mineralisation der Knochenmatrix. Weiterhin ist die Anwesenheit von Vitamin D wichtig für die Wirkungen von Parathormon auf den Knochen. Bei Vitamin D-Mangel entwickeln sich Hypocalcämie, Hypophosphatämie und sekundärer Hypoparathyreoidismus. Je nach Schweregrad des Vitamin D-Mangels findet man radiologisch erkennbare Demineralisation oder Rachitis bzw. Osteomalazie.

Hypocalcämie fördert die Sekretion von Parathormon, das direkt eine Ca-Mobilisation aus dem Knochen (35) und eine Steigerung der renalen Calciumabsorption bewirkt. Gleichzeitig stimuliert Parathormon die Bildung des wirksamsten Vitamin D-Metaboliten, $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ (14,28, 32). $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ stimuliert die intestinale Calciumabsorption (16), den Transport von Calcium aus dem Knochen in den Extrazellulärraum (52) und zum Teil unabhängig von Parathormon die renale Calciumrückabsorption (115). Die beiden letzten Funktionen können Parathormon und $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ gemeinsam übernehmen (35). Siehe auch Abb. 10.

Die Rolle des Vitamin D für die Stimulation der intestinalen Calciumabsorption wurde von verschiedenen Autoren untersucht (91, 92, 94, 96, 123). Schachter und Rosen (106) zeigten, daß 1,25-$(OH)_2$-D den Calciumtransport im Dünndarm entgegen einen Konzentrationsgradienten in vitro fördert. Dies wurde mehrfach bestätigt (3, 82, 104, 122, 125). 1,25-$(OH)_2$-D stimuliert den Calciumtransport in beide Richtungen durch die Mukosazelle (3, 82), jedoch überwiegt der Transport in Richtung zur Serosa um den Faktor 5 oder 10 (23). Der Transport von Calcium durch die dem Darmlumen zugewendete Membran der Mukosazelle ist energieabhängig und kann z. B. durch Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung inhibiert werden (3, 82, 104, 106, 122). Der intestinale Calciumtransport ist Natriumabhängig (81). Es ist noch in der Diskussion, an welcher Stelle 1,25-$(OH)_2$-D den intestinalen Calciumtransport beeinflußt (23, 105).

Intensiv wurde in den letzten Jahren die Lokalisation von 1,25-$(OH)_2$-D in der Zelle untersucht. Biochemische Untersuchungen lassen vermuten, daß 1,25-$(OH)_2$-D im Kern erscheint, bevor der Calciumtransport stimuliert wird; jedoch ist dieser Nachweis mit technischen Schwierigkeiten belastet (19, 20, 50, 113). 1,25-$(OH)_2$-D wird nicht an die glatte Muskulatur des Darmes, die Submukosa sowie bestimmte Segmente des Nierengewebes gebunden (23). Gebunden wird es jedoch an Osteoblasten, Osteoklasten und in den Tubuluszellen der Niere. Es ist erwiesen, daß 1,25-$(OH)_2$-D nach Art der Steroidhormone zum Kern transportiert wird, bevor seine biochemische Antwort erfolgt (23).

Es wurden zytoplasmatische Rezeptoren für Vitamin D-Metabolite nachgewiesen, deren Aufgabe es sein dürfte, die Metabolite zum Kern zu transportieren (17, 18, 68,70, 71, 72). Die Spezifität ist für 1,25-$(OH)_2$-D sehr hoch, jedoch werden auch andere Metabolite von Vitamin D gebunden (25, 69). Hierdurch kann die 1,25-$(OH)_2$-D-artige Wirkung von 25-OH-D erklärt werden (23, 25, 69, 101).

Die heutige Vorstellung von der Wirkungsweise des 1,25-$(OH)_2$-D geht dahin, daß die messenger-RNA-Bildung, die zur Bildung von Calciumtransport-Proteinen führt, stimuliert wird (48, 133, 134). Bisher wurden mehrere Vitamin D-abhängige Calciumtransport-Proteine nachgewiesen, ohne daß jedoch ihre Beteiligung am Vitamin D-abhängigen Calciumtransport genau aufgeklärt werden konnte (111,124, 126, 127).

Rasmussen erklärt 1982 (103) die Wirkung des 1,25-$(OH)_2$-D auf den Calciumtransport durch Veränderungen in der Membranstruktur.

Abb. 11 zeigt die Wirkung von 1,25-$(OH)_2$-D auf die Dünndarmmukosazelle und faßt die obigen Bemerkungen zusammen. Es muß nochmals darauf hingewiesen werden, daß viele der genannten Schritte noch unklar sind.

Wie schon oben gesagt wurde, unterliegt die Bildung von 1,25-$(OH)_2$-D einer Feed-Back-Regulation, an der der Serumcalciumspiegel und Parathormon beteiligt sind. Erniedrigtes Phosphatangebot in der Nahrung (8, 117) und niedrige Plasmaphosphatspiegel (44) führen zu einer erhöhten Plasma-1,25-$(OH)_2$-D-Konzentration. Ebenso führen hohe Plasmaphosphat-

Abb. 10

Wirkorte von Vitamin D und Parathormon, nach DeLuca (23)

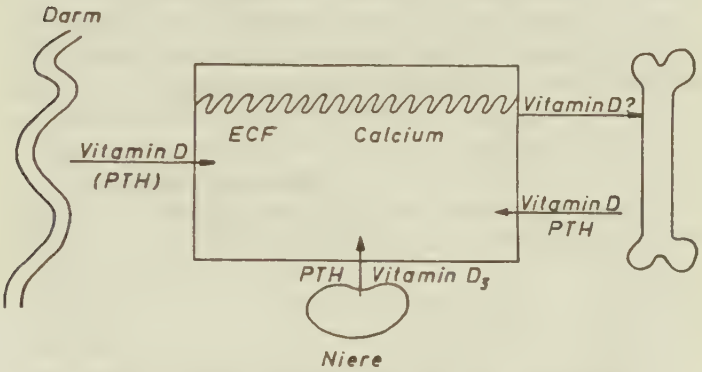
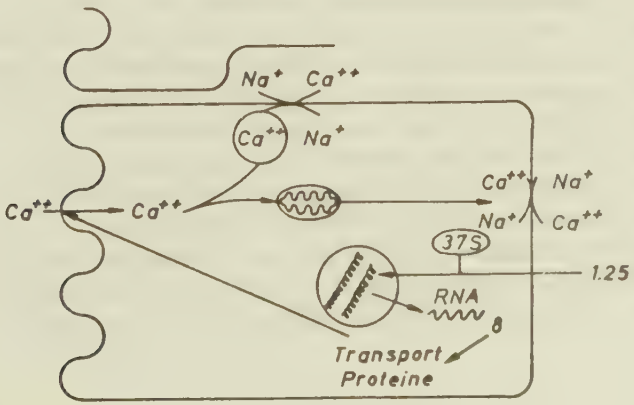


Abb. 11

Wirkungsmechanismus von Vitamin D, nach DeLuca (23)



spiegel zu erhöhten Serum-1,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen (77). Bar und Hurwitz, sowie Tanaka et al. fanden einen stimulierenden Effekt von Geschlechtshormonen auf die 25-Hydroxycholecalciferol-1-Hydroxylase (6, 116). Prolaktin stimuliert bei Küken die 1-Hydroxylase (110), der Effekt konnte beim Menschen nicht bestätigt werden (1, 73). Ebenso konnte die stimulierende Wirkung von Wachstumshormon auf die 1-Hydroxylase (109) von anderen Autoren nicht gefunden werden (40). C-AMP und Calcitonin steigern die Produktion von 1,25-$(OH)_2$-D bei Küken (76). Es gibt auch eine Produkthemmung auf Nierenebene (75).

Schilddrüsenhormone und Vitamin D

Der Einfluß von Thyroxin auf die Vitamin D-Metabolite wurde kürzlich von Weisman und Mitarbeitern (128) im Tierversuch an Ratten untersucht. Ratten, die mit Thyroxin behandelt wurden, zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe 25-OH-D-und 24,25-$(OH)_2$-D- und erniedrigte 1,25-$(OH)_2$-D-Spiegel. Die bisher publizierten Untersuchungen über Vitamin D-Spiegel bei hyperthyreoten Menschen sind sehr unvollständig und zum Teil widersprüchlich. Mosekilde et al. (88) sowie Velentzas et al. (119) fanden bei hyperthyreoten Patienten erniedrigte Serum 25-OH-D-Spiegel. Bouillon et al. (13) fanden keine Änderung dieses Metaboliten bei der Hyperthyreose, die Konzentration von 1,25-$(OH)_2$-D war jedoch bei Hyperthyreose erniedrigt. In derselben Arbeit wird erwähnt, daß die Behandlung der Hyperthyreose die 1,25-$(OH)_2$-D-Spiegel normalisiert, ohne daß jedoch Angaben über Art und Wirksamkeit der Behandlung gemacht werden.

Einige Berichte von Kongressen bereiten wegen z. T. unvollständiger Angaben der Methoden interpretatorische Schwierigkeiten: Kaptein et al. (61) fanden bei sechs hyperthyreoten Patientinnen erniedrigte $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$-Spiegel. Pinnemaneni et al. (100) untersuchten bei hyperthyreoten Patienten 25-OH-D und $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ und fanden keine Änderung beim 25-OH-D und eine Erniedrigung des $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ bei Hyperthyreose. MacFarlane und Mitarbeiter (79) untersuchten 25-OH-D, $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ und $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ bei Patienten vor und nach Behandlung mit Carbimazol. Im Gegensatz zur Arbeit Pinnemanenis war bei MacFarlane neben dem 25-OH-D auch das $24.25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ bei Hyperthyreose unverändert. Letzteres sank unter der Therapie ab. Der $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$-Spiegel war vor Behandlung erniedrigt und stieg nach der Behandlung an. Bisher liegt keine Studie darüber vor, ob mit Veränderungen bei den Konzentrationen der Vitamin D-Metabolite beim Hyperthyreoidismus Veränderungen der intestinalen Calciumabsorption einhergehen.

Die Behandlung der Hyperthyreose hatte bei 13 hier untersuchten Patienten keinen Einfluß auf die Konzentration von 25-OH-D: vor Behandlung: 12,17 $\pm$ 8,42 µg/l ($\bar{x} \pm s$), bei Behandlung: 14,51 $\pm$ 6,61 µg/l, der Unterschied ist nicht signifikant. Die Konzentration von $24,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ wurde während der Behandlung niedriger: vor Behandlung ($n = 12$): 3,29 $\pm$ 2,41 µg/l ($\bar{x} \pm s$), bei Behandlung ($n = 13$): 2,04 $\pm$ 1,10 µg/l, der Unterschied ist signifikant ($p < 0,025$). Die Konzentration von $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D$ stieg während der Therapie der Hyperthyreose deutlich an: vor Behandlung: 37,3 $\pm$ 22,6 ng/l ($\bar{x} \pm s$), nach Behandlung: 71,5 $\pm$ 22,6 ng/l ($n = 13$), der

Unterschied ist signifikant (p 0,001).

Die gemessene intestinale Calciumabsorption betrug vor Behandlung: 31 ± 17 µmol/h ($\bar{x}$ ± s) und bei Behandlung: 104,3 ± 40,5 µmol/h. Zwischen der Änderung der 1,25-$(OH)_2$-D-Konzentration und der Änderung der intestinalen Calciumabsorption besteht wahrscheinlich ein enger Zusammenhang.

Die Ergebnisse zeigen deutlich die Wirkungen der Hyperthyreosebehandlung auf den Vitamin D-Metabolismus und die intestinale Calciumabsorption. Es läßt sich vermuten, daß die nach Erreichen der Euthyreose gesteigerte intestinale Calciumabsorption auf eine Erhöhung der Konzentration des 1,25-$(OH)_2$-D zurückzuführen ist. Ob es sich bei den Konzentrationsänderungen um Auswirkungen auf die Produktion oder die metabolische Clearance der D-Metabolite handelt, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Hypothesen

Folgende beiden Hypothesen über die Wirkung der Schilddrüsenhormone bei Hyperthyreose auf die 1,25-$(OH)_2$-D-Bildung lassen sich aufstellen:

1) Schilddrüsenhormone bewirken durch einen Netto-Calciumausstrom aus dem Knochen eine Erhöhung des Serumcalciumspiegels. Hieraus resultiert zum einen eine erhöhte renale Calciumausscheidung, zum anderen ein erniedrigter Serum-Parathormon-Spiegel. Als Folge des erniedrigten Parathormon-Spiegels fällt die 1,25-$(OH)_2$-D-Konzentration im Serum, was dann mit einer erniedrigten in-

testinalen Calciumabsorption einhergeht.

Erreichen einer euthyreoten Stoffwechsellage führt zu einer Rückführung der Veränderungen und zu einem Netto-Calciumeinstrom in den Knochen, die Osteopenie wird unter 1,25-$(OH)_2$-D-Wirkung behoben.

Gegen diese Hypothese spricht, daß zum einen keine Korrelation zwischen einer Erhöhung des Serumcalciumspiegels bei Hyperthyreose und zirkulierenden Schilddrüsenhormonen gefunden wurde, und daß zum anderen häufig der Parathormonspiegel nicht erniedrigt ist; gehäuft geht die Hyperthyreose mit einem primären Hyperparathyreoidismus einher.

2) Oben genannte Schwierigkeiten kann man umgehen, indem man eine direkte Wirkung von Schilddrüsenhormonen auf die 25-OH-D-1 -Hydroxylase postuliert:

Die bei Hyperthyreose ansteigenden Schilddrüsenhormonkonzentrationen führen zu einer verminderten Konzentration an 1,25-$(OH)_2$-D im Serum. Das hat zur Folge, daß die intestinale Calciumabsorption abnimmt. Hieraus müßte eine erniedrigte Serumcalciumkonzentration resultieren, wenn nicht vermehrt Calcium aus dem Knochen **durch Vermittlung von Schilddrüsenhormonen** mobilisiert würde. Das hierdurch ansteigende Serumcalcium hemmt die Parathormonsekretion. So ist die bei Hyperthyreose auftretende Osteopenie erklärlich.

Bei der zweiten Hypothese bleibt offen, auf welche Weise Schilddrüsenhormone die 1,25-$(OH)_2$-D-Bil-

dung beeinflussen. Eine Erniedrigung der 1,25-$(OH)_2$-D-serumkonzentration durch Schilddrüsenhormone wurde im Tierversuch nachgewiesen. Beim Menschen ist bei Hyperthyreose die 1,25-$(OH)_2$-D-Konzentration im Serum erniedrigt. Eine direkte Wirkung von Schilddrüsenhormonen auf die 25-OH-D-1 -Hydroxylase konnte bisher allerdings nicht nachgewiesen werden und bleibt bei letzter Hypothese Postulat.

Ein **Ergebnis** dieser Arbeit ist die Tatsache, daß die bei der Hyperthyreose auftretenden Störungen des Calciumstoffwechsels durch die Behandlung der Hyperthyreose wieder behoben werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Hyperthyreose findet man gehäuft eine Osteopenie. Die intestinale Calciumabsorption ist vermindert, die renale Calciumausscheidung ist erhöht. Es wurde untersucht, ob Veränderungen des Plasmaspiegels der Vitmin D-Metabolite auf eine Störung des Vitamin D Stoffwechsels bei Hyperthyreose hinweisen, die im Zusammenhang mit den o. g. Störungen des Calciumstoffwechsels stehen könnte. Bei 13 Patienten wurden 25-Hydroxyvitamin D (25-OH-D), 24,25-dihydroxyvitamin D (24,25-$(OH)_2$D) und 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25-$(OH)_2$D) mit Proteinbindungsassays vor und nach Behandlung der Hyperthyreose bestimmt. Der 25-OH-D-Plasmaspiegel lag im Normbereich und wurde durch Behandlung der Hyperthyreose nicht beeinflußt, die 1,25-$(OH)_2$D-Spiegel stiegen nach der Behandlung an, umgekehrt war die 24,25-$(OH)_2$D-Konzentration vor der Behandlung niedriger als nach der Behandlung. Messungen der intestinalen Calciumabsorption durch segmentale Perfusion des Jejunums hatten bei hyperthyreoten Patienten niedrigere Raten als nach der Behandlung ergeben. Ob es sich bei den Störungen im Vitamin D-Metabolismus um Auswirkungen auf die Produktion, etwa eine Parathormon-vermittelte verminderte 1,25-$(OH)_2$D-Produktion nach vermehrter Freisetzung von Calcium aus dem Knochen oder eine direkte, hemmende Wirkung von Schilddrüsenhormonen auf die 1-Hydroxylase, oder um Auswirkungen auf die metabolische Clearance handelt, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen. Die genannten Störungen des Vitamin D-Stoffwechsels waren bei den hier untersuchten Patienten nach der Behandlung reversibel.

Tab. I

Zusammenfassung der Ergebnisse

n = 13

	v	n	
25-OH-D µg/l	12,17 ± 8,42	14,51 ± 6,61	n.s.
24,25-$(OH)_2D$ µg/l	3,29 ± 2,41[x]	2,04 ± 1,10	p 0,025
1,25-$(OH)_2D$ ng/l	37,3 ± 22,6	71,5 ± 22,6	p 0,001
Ca-Absorption pro 30 cm Jejunum µmol/h	31 ± 17	104 ± 41	p o,o1

v = vor Behandlung
n = nach Behandlung

[x] : n = 12

D A N K S A G U N G

Herrn Prof Dr. H.L. Krüskemper danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof Dr. Dr. E. Keck für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und die Ratschläge bei der Auswertung und Darstellung der Ergebnisse.

Meiner Frau Petra Bonkhoff-Graf danke ich herzlich für ihre Mühen bei der Erstellung der Abbildungen.

Frau U. Schäfer und Frau C. Noelle danke ich für die ausgezeichnete technische Anleitung.

VERZEICHNIS DER TABELLEN UND ABBILDUNGEN

		Seite
Abb. 1	Osteochondropathia cretinoida....	2
Abb. 2	Standardkurve 24,25-$(OH)_2$D.....	12
Abb. 3	Standardkurve 1,25-$(OH)_2$D.....	12
Tab. 1a	Daten der Patienten.....	16
Tab. 1b	Daten der Patienten.....	17
Tab. 1c	Daten der Patienten.....	18
Tab. 2	25-OH-D-Konzentrationen.....	22
Abb. 4	25-OH-D-Konzentrationen.....	22
Tab. 3	24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen....	23
Abb. 5	24,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen....	23
Tab. 4	1,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen.....	24
Abb. 6	1,25-$(OH)_2$-D-Konzentrationen.....	24
Tab. 5	Mittelwerte der D-Metabolite.....	26
Abb. 7	D-Metabolite vor und bei Behandlung.....	26
Abb. 8	Änderung der 1,25-$(OH)_2$D-Konzentration während der Behandlung in Abhängigkeit von der Jahreszeit..	27

		Seite
Abb. 9	Änderung der 24,25-$(OH)_2$D-Konzentration während der Behandlung in Abhängigkeit von der Jahreszeit...	28
Abb. 10	Wirkorte von Vitamin D und Parathormen.....	37
Abb. 11	Wirkungsmechanismus von Vitamin D.	37
Tab. I	Zusammenfassung der Ergebnisse....	44

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1 Adams, N.D., T.L. Garthwaite, R.W. Gray, T.C. Hagen, J. Lemann:
The interrelationships among prolactin, 1,25-dihydroxyvitamin D, and parathyroid hormone in humans.
J Clin Endocrinol Metab 49/4: 628 (1979)

2 Adams, P.H., J. Jowsey, P.J. Kelly, B.L. Riggs, V.R. Kinney, J.D. Jones:
Effects of hyperthyroidism on bone and mineral metabolism in man.
Q J Med 36/141: 1 (1966)

3 Adams, T.H., A.W. Norman:
Studies on the mechanism of action of calciferol I. Basic parameters of vitamin D mediated calcium transport.
J Biol Chem 245: 4421 (1970)

4 Aub, J.C., W. Bauer, C. Heath, M. Ropes:
Studies of calcium and phosphorus metabolism. III. The effect of thyroid hormone and thyroid disease.
J Clin Invest 7: 97 (1929)

5 Avioli, L.V.:
Osteoporosis: pathogenesis and therapy
Vol 1: 307 in: Avioli, L.V., S.M. Krane (Ed): Metabolic bone disease.
Academic Press, New York (1977)

6 Bar, A., S. Hurwitz:
The interaction between dietary calcium and gonadal hormones in their effect on plasma calcium, bone, 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase, and duodenal calcium-binding protein, measured by a radioimmunoassay in chicks.
Endocrinology 104/5: 1455 (1979)

7 Baxter, J.D., P.K. Bandy:
Hypercalcemia of thyrotoxicosis
Ann Intern Med 65: 429 (1966)

8 Baxter, L.A., H.F. DeLuca:
Stimulation of 25-hydroxyvitamin D_3-1 -hydroxylase by phosphate depletion.
J Biol Chem 251/10: 3158 (1976)

9 Bhattacharyya, M., H.F. DeLuca:
Subcellular location of rat liver calciferol-25-hydroxylase.
Arch Biochem Biophys 160: 58 (1974)

10 Borle, A.B.:
Regulation of calcium transport in intestinal cells by calciferol (D_3).
Endocrinology 88A: 155 (1971)

11 Botham, K.M., J.G. Ghazarian, B.E. Kream, H.F. DeLuca:
Isolation of a potent inhibitor of 25-hydroxyvitamin D_3-1-hydroxylase from rat serum.
Biochemistry 15: 2130 (1976)

12 Bouillon, R., P. de Moor:
Parathyroid function in patients with hyper- or hypothyroidism.
J Clin Endocrinol Metab 38/6: 999 (1974)

13 Bouillon, R., E. Muls, P. de Moor:
Influence of thyroid function on serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D_3.
J Clin Endocrinol Metab 51/4: 793 (1980)

14 Boyle, I.T., R.W. Gray, H.F. DeLuca:
Regulation by calcium of in vivo sythesis of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 21,25-dihydroxycholecalciferol.
Proc Natl Acad Sci USA 68/9: 2131 (1971)

15 Boyle, I.T., R.W. Gray, J.L. Omdahl, H.F. DeLuca:
Calcium control of the in vivo biosynthesis of 1,25dihydroxyvitamin D_3: Nicolaysen's endogenous factor, in: Taylor, S. (Ed): Proceeding of the third international symposium on endocrinology, William Heinemann Medical Books, London: 468 (1971)

16 Boyle, I.T., L. Miravet, R.W. Gray, M.F. Hollick, H.F. DeLuca:
The response of intestinal calcium transport to 25-hydroxy and 1,25-dihydroxyvitamin D in nephrectomized rats.
Endocrinology 90: 605 (1972)

17 Brumbaugh, D.F., M.R. Haussler:
1 ,25-dihydroxyvitamin D_3 receptor: competitve binding of vitamin D analogs.
Life Sci 13: 1737 (1973)

18 Brumbaugh, P.F., M.R. Haussler:
Nuclear and cytoplasmatic binding components for vitamin D metabolites.
Life Sci 16: 353 (1975)

19 Chen, T.C., H.F. DeLuca:
Receptors for 1,25-dihydroxycholecalciferol in rat intestine.
J Biol Chem 248: 4890 (1973)

20 Chen, T.C., J.C. Weber, H.F. DeLuca:
On the subcellular location of vitamin D metabolites in intestine.
J Biol Chem 245: 3776 (1970)

21 Cook, P.B., J.R. Nassim, J. Collins:
The effects of thyrotoxicosis upon the metabolism of calcium, phosphorus, and nitrogen.
Q J Med 28/12: 505 (1959)

22 Deftos, L.J.:
The thyroid gland in skeletal and calcium metabolism. In: Metabolic bone disease, Avioli,L.M., S.M. Krane (Ed), Vol II: 447
Academic Press, New York: 447 (1978)

23 DeLuca, H.F.:
Vitamin D and calcium transport.
Ann NY Acad Sci 307: 356 (1978)

24 DeLuca, H.F., H.F. Schnoes:
Metabolism and mechanism of action of vitamin D.
Ann Rev Biochem 45: 631 (1976)

25 Eisman, J.A., H.F. DeLuca:

Intestinal 1,25-dihydroxyvitamin D_3 binding protein: specifity of binding.
Steroids 30: 245 (1977)

26 Eisman, J.A., R.M. Shepard, H.F. DeLuca:
Determination of 25-hydroxyvitamin D_2 and 25-hydroxyvitamin D_3 in human plasma using high pressure liquid chromatography.
Anal Biochem 80: 298 (1977)

27 Fraser, D.R., E. Kodicek:
Unique biosynthesis ba kidney of a biologically active vitamin D metabolite.
Nature 228: 764 (1970)

28 Fraser, D.R., E. Kodicek:
Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone.
Nature New Biol 241: 163 (1973)

29 Frolick, C.A., H.F. DeLuca:
1.25-dihydroxycholecalciferol: The metabolite of vitamin D responsible for increased intestinal calcium transport.
Arch Biochem Biophys 147: 143 (1971)

30 Frolick, C.A., H.F. DeLuca:
Metabolism of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the rat.
J Clin Invest 51: 2900 (1972)

31 Garabedian, M., M. Bailly Du Bois, M.T. Corvol, E. Pezant, S. Balsan:

Vitamin D and cartilage. I. In vitro metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by cartilage. Endocrinology 102/4: 1262 (1978)

32 Garabedian, M., M.F. Holick, H.F. DeLuca, I.T. Boyle:
Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands.
Proc Nat Acad Sci USA 69/7: 1673 (1972)

33 Garabedian, M., M. Lieberherr, T. M. N'Guyen, M.T. Corvol, M. Bailly Du Bois, S. Balsan:
The in vitro produktion and activity of 24,25-dihydroxycholecalciferol in cartilage and cavyrium.
Clin Orthop 135: 241 (1978)

34 Garabedian, M., H. Pavlovitch, c. Fellot, S. Balsan:
Metabolism of 25-hydroxyvitamin D_3 in anephric rats: a new active metabolite.
Proc Natl Acad Sci USA 71: 554 (1974)

35 Garabedian, M., Y. Tanaka, M.F. Holick, H.F. DeLuca:
Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization to 1,25-dihydroxy-vitamin D_3 in thyroparathyroidectomized rats.
Endocrinology 94/4:1022 (1974)

36 Geigy, Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, Teilband III Statistik (1979)

37 Gertner, J.M., R.L. Horst, A. E. Broadus, H.

Rasmussen, M. Genel:
Parathyroid function and vitamin D metabolism during human growth hormone raplacement.
J Clin Endocrinol Metab 49/2: 185 (1979)

38 Ghazarian, J.G., H.F. DeLuca:
25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: A specific requirement for NADPH and a hemoprotein component in chick kidney mitochondria.
Arch Biochem Biophys 160: 63 (1974)

39 Gordon, D.L., S. Suvanich, V. Erviti, M.A. Schwartz, C.J. Martinez:
The serum calcium level and its significance in hyperthyroidism: a prospective study.
Ann J Med Sci 268/1: 31 (1974)

40 Gray, R., I. Boyle, H.F. DeLuca:
Vitamin D metabolism: the role of kidney tissue.
Science 172: 1232 (1971)

41 Gray, T.R., G.E. Lester, K.V. Speeg, D. Rabin:
Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D_3 by human placental cells in culture.
Clin Res 28/2: 393A (1980)

42 Gray, R.W., J.L. Omdari, J.G. Ghazarian, H.F. DeLuca:
25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: subcellular location and properties.
J Biol Chem 247: 7528 (1972)

43 Gray, R.W., H.P. Weber, J.H. Dominguez, J. Lemann:
The metabolism of vitamin D_3 and 25-hydroxy-

vitamin D_3 in normal and anephric humans.
J Clin Endocrinol Metabolism 39: 1045 (1974)

44 Gray, R.W., D.R. Wilz, A.E. Caldas, J. Lemann:
The importance of phosphate in regulating plasma 1,25-$(OH)_2$-vitamin D levels in humans: studies in healthy subjects, in calcium-stone formers, and in patients with primary hyperparathyroidism.
J Clin Endocrinol Metab 45: 299 (1977)

45 Haddad, J.G., K.J. Chyu:
Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol.
J Clin Endocrinol Metab 33: 992 (1971)

46 Haddad, J.G., T.C.B. Saimp:
Circulating 25-hydroxyvitamin D in man.
Am J Med 57: 57 (1974)

47 Haddad, J.G., J. Walgate:
25-hydroxyvitamin D transport in human plasma.
J Biol Chem 251/16: 4803 (1976)

48 Hollick, R.B., H.F. DeLuca:
Vitamin D_3-stimulated template activity of chromatin from rat intestine.
Proc Nat Acad Sci USA 63: 528 (1969)

49 Hansman, F.S., W.A. Carr-Frazer:
Calcium and phosphorus metabolism in diseases of the thyroparathyroid apparatus.
J Clin Invest 17: 543 (1938)

50 Haussler, M.R., J.F. Myrtle, A.W. Norman:
The association of a metabolite of vitamin D_3 with intestinal mucosa chromatin in vivo.
J Biol Chem 243: 4055 (1968)

51 Henry, H.L.:
Metabolism of 25-hydroxyvitamin D_3 by primary cultures of chick kidney cells.
Biochem Biophys Res Commun 74: 768 (1977)

52 Hollick, M.F., M. Garabedian, H.F. DeLuca:
1.25-Dihydroxycholecalciferol: Metabolite of vitamin D_3 active on bone in anephric rats.
Science 176:1146 (1972)

53 Hollick, M.F., H.K. Schnoes, H.F. DeLuca, R. W. Gray, I.T. Boyle, T. Suda:
Isolation and identification of 24,25-dihydroxy-cholecalciferol: A metabolite of vitamin D_3 made in the kidney.
Biochemistry 11: 4251 (1972)

54 Horsting, M., H.F. DeLuca:
In vitro production of 25-hydroxycholecalciferol.
Biochem Biophys Res Commun 36/2: 251 (1969)

55 Howard, G.A., R.T. Turner, D.J. Sherrard, D.J. Baylink:
Human bone cells produce 1,25.$(OH)_2D_3$ and 24,25-$(OH)_2D_3$.
Clinical Research 54A (1976)

56 Howard, G.A., R.T. Turner, D.J. Sherrard, D.J. Baylink:

Human bone cells in culture metabolize 25-hydroxyvitamin D_3 to 1,25-dihydroxyvitamin D_3 and 24,25-dihydroxyvitamin D_3.
J Biol Chem 256: 7738 (1981)

57 Imawari, M., K. Kida, D.S. Goodman:
The transport of vitamin D and its 25-hydroxy-metabolite in human plasma.
J Clin Invest 58: 514 (1976)

58 Johnson, R.L., W.H. Okanura, A.W. Norman:
Studies on the mode of action of cholecalciferol. X. 24-nor-25- hydroxyvitamin D_3, an analog of 25-hydroxyvitamin D_3 having "anit-vitamin" activity.
Biochem Biophys Res Commun 67/2: 797 (1975)

59 Juan, D., H.F. DeLuca:
The regulation of 24,25-dihydroxyvitamin D_3-production in cultures of monkey kidney cells.
Endocrinology 101: 1184 (1977)

60 Kaiser, W.:
Hyperthyreose und Calciummetabolismus.
Zschr Inn Med 30/14: 461 (1975)

61 Kaptein, E.M., F.R. Singer, J.T. Nicoloff, J.E. Bishop, A.W. Norman:
Plasma 1 ,25-dihydroxycholecalciferol (1,25-$(OH)_2$-D) is decreased in hyperthyroidism.
Clin Res 27: 369A (1979)

62 Keck, E., R. Durdel, H.V. Schweikert, F. Krück, H.L. Krüskemper:

Metabolism of 25-hydroxycholecalciferol in human spongiosa.
14th annual meeting, European Society for Clinical Investigation: 106 (1980)

63 Keck, E., H.L. Krüskemper, H.v. Lilienfeld-Toal:
Protein binding assays for 25-hydroxy-, 24,25-dihydroxy- and 1,25-dihydroxy metabolites of vitamin D in human plasma.
J Clin Chem Clin Biochem 19: 1043 (1981)

64 Keck, E., H.v. Lilienfeld-Toal, R. Durdel, H.L. Krüskemper:
Probleme bei der Bestimmung der Vitamin D_3 Metabolite.
Bulletin s.s.c.l./s.g.k.c. 21/2: 45 (1980)

65 Keck, E., H. Peerenboom, H.J. Graf, H.v. Lilienfeld-Toal, E. Heinen, H.L. Krüskemper:
Vitamin D metabolites in hyperthyroidism.
Acta Endocrinol 96 Suppl 240: 36 (1981)

66 Knutson, J.C., H.F. DeLuca:
25-hydroxyvitamin D_3-24hydroxylase. Subcellular location and properties.
Biochemistry 13: 1543 (1974)

67 Krane, S.M., G.L. Brownell, J.B. Stanbury, H. Corrigan:
The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man.
J Clin Invest 35: 874 (1956)

68 Kream, B.E., H.F. DeLuca:

A specific binding protein for 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in rats intestinal cytosol.
Biochem Biophys Res Commun 76: 735 (1977)

69 Kream, B.E., M.J.L. Jose, H.F. DeLuca:
The chick intestinal cytosol binding protein for 1,25-dihydroxyvitamin D_3: A study of analog binding.
Arch Biochem Biophys 179: 462 (1977)

70 Kream, B.E., M. Jose, S. Yamada, H.F. DeLuca:
A specific high affinity binding macromolecule for 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in fetal bone.
Science 197: 1086 (1977)

71 Kream, B.E., R.D. Reynolds, J.C. Knutson, J.A. Eisman, H.F. DeLuca:
Intestinal cytosol binders of 1,25-dihydroxyvitamin D_3 and 25-hydroxyvitamin D_3.
Arch Biochem Biophys 176: 779 (1976)

72 Kream, B.E., S. Yamada, H.K. Schnoes, H.F. DeLuca:
Specific cytosol binding protein for 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in rat intestine.
J Biol Chem 197: 1086 (1977)

73 Kumar, R., C.F. Alboud, B.L. Riggs:
The effect of elevated prolactin levels on plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and intestinal absorption of calcium.
Mayo Clin Proc 55: 51 (1980)

74 Kumar, R., H.K. Schnoes, H.F. DeLuca:

Rat intestinal 25-hydroxyvitamin D_3 and 1,25-dihydroxyvitamin D_3-24-hydroxylase.
J Biol Chem 25: 3804 (1978)

75 Lambert, P.W., B.J. Syverson, C.D. Arnaud, T.C. Spelsberg:
Isolation and quantitation of endogenous vitamin D and its physiologically important metabolites in human plasma by high pressure liquid chromatography.
J Steroid Biochem 8: 929 (1977)

76 Larkins, R.G., S.J. Macauley, A. Rapopert, T.J. Martin, B.R. Tullock, P.G.H. Byfield, E.W. Matthews, J. Macintyre:
Effects of nucleotides, hormones, ions and 1,25-dihydroxycholecalciferol on 1,25-dihydroxy-cholecalciferol production in isolated chick renal tubules.
Clin Sci 46: 569 (1974)

77 Lilienfeld-Toal v., H., S. Issa, M. Kluckhuhn, E. Keck:
Consequence of phosphat loading in normal man.
In: Vitamin D chemical, biochemical and clinical endocrinology of calcium metabolism. Norman, A.W., K. Schäfer, D.v. Herrath, H.-G. Grigoleit (Ed), Walter de Gruyter, Berlin New York : 557 (1982)

78 Linde, J., T. Friis:
Osteoporosis in hyperthyroidism estimated by photon absorptiometry.
Acta Endocrinol 91: 437 (1979)

79 MacFarlane, I.A., E.B. Mawer, J. Berry, J. Hann:
Vitamin D metabolism in hyperthyroidism.
Acta Endocrinol 97: IA12 (1981)

80 Malluche, H.H., H. Henry, W.A. Meyer, D. Sherman, S.G. Massry, A.W. Norman:
Effects and interaction of 1,25-$(OH)_2D_3$ and 24,25-$(OH)_2D_3$ on bone. In: Vitamin D basic research and its clinical application.
Norman, A.W., K. Schaefer, D.v. Herrath, H.-G. Grigoleit J.W. Coburn, H.F. DeLuca, E.B. Mawer, T. Suda (Ed), Walter de Gruyter, Berlin New York: 425 (1979)

81 Martin, D.L., H.F. DeLuca:
Influence of sodium on calcium transport by the rat small intestine.
Am J Physiol 198: 275 (1960)

82 Martin, D.L., H.F. DeLuca:
Calcium transport and the role of vitamin D.
Arch Biochem Biophys 134: 139 (1969)

83 Midgett, R.J., A.M. Spielvogel, J.W. Coburn, A.W. Norman:
Studies on calciferol metabolism. VI. The renal production of the biologically active form of vitamin D, 1,25-dihydroxycholecalciferol, species, tissue and subcellular distribution.
J Clin Endocrinol Metab 36: 1193 (1973)

84 Mindroiu, T., C. Esanu:
The intestinal calcium absorption in thyroid

dysfunction.
Rev Roum Med Intern 12: 119 (1974)

85 Miravet, L., P. Bordier, H. Matrajt, D. Hioco, A. Ryckewaert:
Bone changes in adult patients with abnormal thyroid function.
Proc R Soc Med 60: 1134 (1967)

86 Montz, R., R. Hehrmann, C, Schneider, V. Wieke, K.H. Reichstein, H.M. Schmitz:
Calciumstoffwechsel bei Hyperthyreose.
Radiologe 14: 166 (1974)

87 Mosekilde, L., M.S. Christensen:
Decreased parathyroid function in hyperthyroidism: interrelationships between serum parathyroid hormone, calcium-phosphorus metabolism and thyroid function.
Acta Endocrinol 84: 566 (1975)

88 Mosekilde, L., B. Lund, O.H. Sørensen, M.S. Christensen, F. Melsen:
Serum 25-hydroxycholecalciferol in hyperthyroidism.
Lancet I:806 (1977)

89 Mosekilde, L., F. Melsen:
Effect of antithyroid treatment on calcium-phosphorus metabolism in hyperthyroidism.
II: bone histomorphometry.
Acta Endocrinol 87: 751 (1978)

90 Mosekilde, L., F. Melsen, J.P. Bagger, O. Myhre-Jensen, O.H. Sørensen:
Bone changes in hyperthyroidism: interrelation-

ships between bone morphometry, thyroid function and calcium-phosphorus metabolism.
Acta Endocrinol 85: 515 (1977)

91 Nicolaysen, R.:
Studies upon the mode of action of vitamin D.II. The influence of vitamin D on the faecal output of endogenous calcium and phosphorus in the rat.
Biochem J 31: 107 (1937)

92 Nicolaysen, R.:
Studies upon the mode of action of vitamin D.III. The influence of vitamin D on the absorption of calcium and phosphorus in the rat.
Biochem J 31: 122 (1937)

93 Nordin, B.E.C.:
Metabolic bone and stone disease.
Churchill Livingstone, Edingburgh (1979)

94 Omdahl, J.L., H.F. DeLuca:
Regulation of vitamin D metabolism and function.
Physiol Rev 53: 327 (1973)

95 Omdahl, J.L., R.W. Gray, I.T. Boyle, J. Knutson, H.F. DeLuca:
Regulation of metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by kidney tissue in vitro by dietary calcium.
Nature New Biol 237: 63 (1972)

96 Orr, W.J., L.E. Holt, J.L. Wilkins, F.H. Boonse:
The calcium and phosphorus metabolism in rickets, with special reference to ultraviolet ray therapy.

Am J Dis Child 26: 362 (1923)

97 Oarfitt, A.M., C.E. Dent:
Hyperthyroidism and hypercalcaemia.
Q J Med 39/154: 171 (1969)

98 Pederson, J.I., J.G. Ghazarian, N.R. Orme-Johnson, H.F. DeLuca:
Isolation of chick renal mitochondrial ferredoxin active in the 25-hydroxyvitamin D_3-1 -hydroxylase system.
J Biol Chem 251:3933 (1976)

99 Peerenboom, H.:
Intestinale Absorption von Calcium und Magnesium: Untersuchungen bei Gesunden und bei Patienten mit Erkrankungen endokriner Organe.
Thieme, Stuttgart:1 (1982)

100 Pinnemaneni, K.M., L. Skosey, L.R. Halstead, C.P. Barsano, L.J. DeGroot, L.V. Avioli, T.J. Hahn:
Vitamin D metabolites in disorders of thyroid metabolism.
Clin Res 28/2: 403A (1980)

101 Proscal, D.A., W.H. Okamura, A.W. Norman:
Structural requirements for the interaction of 1 ,25-$(OH)_2$-vitamin D_3 with its chick intestinal receptor system.
J Biol Chem 250: 8382 (1975)

102 Puppel, I.D., G.M. Curtis:
Calcium and iodine metabolism in thyroid disease.
Arch Int Med 58: 957 (1936)

103 Rasmussen, H.,.T. Matsumato, D. Kreuther:
Changes in lipid metabolisms and membrane structure after 1,25-$(OH)_2D_3$ administration.
5th workshop on vitamin D, Virginia,
abstract S. 103 (1982)

104 Schachter, D.:
Vitamin D and the active transport of calcium by the small intestine. In: The transfer of calcium and strontium across biological membranes. R.H. Wassermann (Ed) Section IV.
:197 Academic Press, New York (1963)

105 Schachter, D., S. Kowarski, J.D. Finkelstein, R Wang Ma:
Tissue concentration differences during active transport of calcium by intestine.
Am J Physiol 211: 1131 (1966)

106 Schachter, D., R.M. Rosen:
Active transport of Ca 45 by the small intestine and its dependence of vitamin D.
Am J Physiol 196: 357 (1959)

107 Shafer, R.B., D.H. Gregory:
Calcium malabsorption in hyperthyroidism.
Gastroenterology 63/2: 235 (1972)

108 Singhelakis, P., C.C. Alevizaki, D.G. Ikkos:
Intestinal calcium absorption in hyperthyroidism.
Metabolism 23/4: 311 (1974)

109 Spanos, E., D. Barret, I. MacIntyre, J.W.

Pike, E.F. Safilian, M.R. Haussler:
Effect of growth hormone on vitamin D metabolism.
Nature 273: 246 (1978)

110 Spanos, E., K.W. Calston, I.M.S. Evans, L.S. Galante, S.J. Macauley, I. MacIntyre:
Effect of prolactin on vitamin D metabolism.
Mol Cell Endocrinol 5: 163 (1976)

111 Spencer, R., M. Charman, J.S. Emtage, D.M. Lawson:
Production and properties of vitamin D-induced mRNA for chick calcium-binding protein.
Eur J Biochem 71: 399 (1976)

112 Spencer, H., I. Lewin, J. Samachson:
Changes in calcium metabolism in endocrine disorders.
Folia Endocrinol 29: 515 (1966)

113 Stohs, S.J., H.F. DeLuca:
Subcellular location of vitamin D and its metabolites in intestinal mucosa after a 10 IU dose.
Biochemistry 6: 3338 (1967)

114 Stryd, R.P., J.Gilbertson, M.N. Brunden:
A seasonal variation study of 25-hydroxy-vitamin D_3 serum levels in normal humans.
J Clin Endocrinol Metab 48/5: 771 (1979)

115 Sutton, R.A.L., C.A. Harris, N.L.M. Wong, J. Dirks:

Effects of vitamin D on renal tubular calcium transport. In: Norman, A.W., K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath (Eds): Vitamin D: biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. Walter de Gruyter, Berlin: 451 (1977)

116 Tanaka, Y., L. Castillo, M.J. Wineland, H.F. DeLuca:
Synergistic effect of progesterone, testosterone, and estradiol in the stimulation of chick renal 25-hydroxyvitamin D_3-1-hydroxylase.
Endocrinology 103/6: 2035 (1978)

117 Tanaka, Y., H.F. DeLuca:
The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus.
Arch Biochem Biophys 154: 566 (1973)

118 Taylor, C.M., E.B. Mawer, J.G. Wallace, J.S. John, M. Cochran, R.G.G. Russel, J.A. Kanis:
The absence of 24,25-dihydroxycholecalciferol in anephric patients.
Clin Sci 55: 541 (1978)

119 Velentzas, C., D.G. Oreopoulos, G. From, B. Porret, A. Rapoport:
Vitamin D levels in thyrotoxicosis.
Lancet I: 370 (1977)

120 Vittali, H.P.:
Knochenerkrankungen.
Sandoz, Basel (1970)

121 Recklinghausen, von, F.C.:
Die fibrinöse oder deformierende Ostitis, die Osteomalazie und die osteoplastische Carcinose in ihren gegenseitigen Beziehungen. Festschrift für Rudolf Virchow, Reimer Verlag, Berlin: 1 (1891)

122 Walling, M.W., S.S. Rathman:
Phosphat independent, carrier mediated active transport of calcium by rat intestine. Am J Physiol 217: 1144 (1969)

123 Wassermann, R.H.:
Vitamin D and the absorption of calcium and strontium in vivo. In: Wassermann, R.H. (Ed) The transfer of calcium and strontium across biological membranes. Academic Press, New York: 211 (1963)

124 Wassermann, R.H.:
The vitamin D dependent calcium-binding protein. In: The fat-soluble vitamins. H.F. DeLuca, W. Sutti (Eds).
University of Wisconsin Press, Madison Wisc. :21 (1970)

125 Wassermann, R.H., F.A. Kaddefiz, C.C. Comar:
Active transport of calcium by rat duodenum in vivo.
Science 133: 883 (1961)

126 Wassermann, R.H., A.N. Taylor:
Vitamin D_3 induced calcium-binding protein in chick intestinal mucosa.
Science 152: 791 (1966)

127 Wassermann, R.H., A.N. Taylor:
Metabolic roles of fat-soluble vitamin D, E, and K.
Ann Rev Biochem 41: 179 (1972)

128 Weisman, Y., Z. Eisenberg, R. Lubelski, Z. Spierer, S. Edelstein, A. Harrel:
Decreased 24,25-dihydroxycholecalciferol and increased 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxy-cholecalciferol in tissues of rats treated with thyroxine.
Calcif Tissue Int 33: 445 (1981)

129 Weisman, Y., A. Harrel, S. Edelstein, M. David, S. Spierer, A. Golander:
1,25-dihydroxyvitamin D_3 in vitro synthesis by human decidua and placenta.
Nature 281: 317 (1979)

130 Williams, G.A. E.N. Bowser, W.J. Henderson:
Calciu-47 absorption in rats with induced hyperthyroidism.
Isr J Med Sci 315: 639 (1967)

131 Wong, R.G., A.W. Norman, C.R. Reddy, J.W. Coburn:
Biologic effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol (a highly active vitamin D metabolite) in acutely uremic rats.
J Clin Invest 51: 1287 (1972)

132 Yamauchi, N.:
Ca-47 kinetic studies in patients with thyroid dysfunction.
Nagoya J Med Sci 31: 277 (1968)

133 Zerwekh, J.E., M.R. Haussler, T.J. Lindell: Rapid enhancement of chick intestinal DNA-dependent RNA polymerase II activity by 1 ,25-dihydroxyvitamin D_3, in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 71/6: 1227 (1974)

134 Zerwekh, J.E., T.J. Lindell, M.R. Haussler: Increased intestinal chromatin template activity. Influence of 1 ,25-dihydroxyvitamin D_3 and hormone receptor complexes. J Biol Chem 251:2388 (1976)

L E B E N S L A U F

Name:	Hans-Josef Graf
Geb.:	23. 06. 1955

Ausbildungsgang:

1962 - 1966	Volksschule
1966 - 1974	Gymnasium mit Abschluß Abitur
1974 - 1975	Zivildienst
1975 - 1976	Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover
1976 - 1977	Praktikum, Gesundheitsamt Dortmund
1977 - 1981	Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf
1981 - 1982	Studium der Medizin, Städt. Kliniken Duisburg, Lehrkrankenhaus der Universität Essen mit Abschluß
02. 11. 1982	Staatsexamen
zur Zeit:	Assistenzarzt, Evangelisches Krankenhaus Oberhausen